

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik der
Freien Universität Berlin im Städt. Krankenhaus Westend
Direktor: Professor Dr. med. Günther A. Neuhaus

DÜNNSCHICHT - CHROMATOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN DES STUHLs UND URINS NACH DIGOXIN - $^{12}\text{H}^3$ -VERABFOLGUNG BEI MENSCHEN

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an den

Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Erika Meyer-Elmen

aus Bad Ems

1971

Aus der Medizinischen Klinik und Poliklinik der
Freien Universität Berlin im Städt. Krankenhaus Westend
Direktor: Professor Dr. med. Günther A. Neuhaus

DÜNNSCHICHT - CHROMATOGRAPHISCHE UNTERSUCHUNGEN DES STUHLIS UND URINS NACH DIGOXIN - $^{12}\text{H}^3$ -VERABFOLGUNG BEI MENSCHEN

Inaugural-Dissertation

zur

Erlangung der medizinischen Doktorwürde

an den

Medizinischen Fachbereichen der Freien Universität Berlin

vorgelegt von

Erika Meyer-Elmen

aus Bad Ems

Referent: Professor Dr. med. Antonio Ruiz-Torres

Korreferent: Professor Dr. med. Norbert Rietbrock



Gedruckt mit Genehmigung der Medizinischen Fachbereiche
der Freien Universität Berlin

Promoviert am: 24. Februar 1971

INHALT

Seite

I	Einleitung	2
II	Literaturübersicht	3
III	Methodik	8
	A. Substanz	
	B. Probanden	
	C. Aufarbeitung von Stuhl und Urin	
	D. Dünnschicht-Chromatographie	
	a) Plattenherstellung	
	b) Vorreinigung	
	c) Auftragung	
	d) Fließmittel	
	e) Substanznachweis	
	f) Aktivitätsmessung	
	g) Anzahl der Untersuchungen	
IV	Ergebnisse	17
	A. Untersuchung des Urins auf Metaboliten Radioaktivitätsverteilung im Dünnschicht- Chromatogramm	
	B. Untersuchung des Stuhls auf Metaboliten Radioaktivitätsverteilung im Dünnschicht- Chromatogramm	
	C. Gegenüberstellung des Substanznachweises durch Radioaktivitätsmessung und der Iden- tizierungsmethode Chloramin - T - Färbung	
V	Diskussion	27
	A. Urin-Befunde	
	B. Stuhl-Befunde	
VI	Zusammenfassung	37
VII	Literatur	39

EINLEITUNG

Tierexperimentelle Ergebnisse sind bekanntlich nicht ohne weiteres auf den Menschen zu übertragen. Unter Berücksichtigung der entsprechenden Einschränkungen hat sich aber stets das Tierexperiment als Grundlage der Klinik erwiesen. Nicht so auf dem Gebiet der Digitalis-Glycoside: hier stützt sich die Praxis hauptsächlich auf eine im Laufe der Jahre wachsende Empirie. Das von klinischer Seite angeführte Argument für diese Isolierung ist das grundsätzlich unterschiedliche Verhalten des Menschen. Es sollte jedoch darauf hingewiesen werden, daß der Kern des Problems nicht im Menschen oder im Tier, sondern in der Substanz selbst liegt. Der chemische Nachweis dieser Substanzengruppe ist mühsam; der Wirkungsnachweis ist sowohl am Menschen wie am Tier mit manchen Schwierigkeiten behaftet.

In den letzten Jahren sind mit radioaktiv markierten Herzsteroiden Untersuchungen am Menschen durchgeführt worden, die sich teilweise nicht mit den zur gleichen Zeit gewonnenen tierexperimentellen decken. Diese Widersprüche scheinen das anfangs Gesagte zu unterstützen. Wir sind jedoch der Auffassung, daß bis heute nicht genug Untersuchungen sowohl am Menschen als auch am Versuchstier vorliegen, die ein abschließendes Urteil erlauben.

Unsere Arbeit beschäftigt sich unter besonderer Berücksichtigung des Digoxins mit dem Problem der Metabolisierung von Herzsteroiden. Die am Menschen gewonnenen Ergebnisse werden gemeinsam mit anderen aus der Literatur den tierexperimentellen Untersuchungen gegenübergestellt.

LITERATURÜBERSICHT

Seit den Untersuchungen von CLOETTA, 1926 (10), galt die Meinung, daß vorwiegend der Genin-Anteil eines Herzsteroides für die Herzwirksamkeit verantwortlich zu machen sei. Die Wirkungslosigkeit des k-Strophanthins nach peroraler Gabe wurde durch die angebliche Unwirksamkeit des Strophanthidins erklärt. Der Autor nahm an, daß bei oraler Gabe eines Glycosides nach Überschreiten der Leberschranke nur Genine in die Blutbahn gelangen würden. Diese Theorie mit den vielen davon abgeleiteten Hypothesen über Kumulation und Ausscheidungsart hat sich als nicht zutreffend erwiesen. Insbesondere durch die in den letzten zwei Jahrzehnten durchgeführten Untersuchungen über den Stoffwechsel von Digitoxin (Übersicht bei REPKE, 1958, 110) ist nachgewiesen worden, daß der erwähnte Abbauweg keine ausschlaggebende Bedeutung besitzt.

NEUMANN, 1949 (92), stellte fest, daß in vitro aus Digitoxin, Oleandrin und Cymarin kein Genin entsteht. Andererseits wiesen OKITA und Mitarbeiter, 1953 und 1955 (96,97), beim Menschen nach, daß nach Verabfolgung von ^{14}C -Digitoxin nur 6 - 10 % der insgesamt ausgeschiedenen Dosis unmetabolisiertes Digitoxin waren. Bereits zwei Minuten nach Gabe konnte man im Blut einen großen Prozentsatz von metabolisiertem Digitoxin feststellen (OKITA, 1957, 95). Untersuchungen von BROWN und Mitarbeitern, 1956 und 1957 (7,8), an der Ratte wiesen auf die C-12-Hydroxylierung des Digitoxins und damit seine Umwandlung in das Digoxin als Hauptmetaboliten hin. Die Ergebnisse wurden von REPKE, 1958 (101,103, 105), bestätigt.

Die langsame Elimination des Digitoxins bei der Ratte lastete REPKE, 1959 (101), dem Vorgang der Hydroxylierung an; wenn auch OKITA, 1957 (95), betonte, daß es sich bei der Metabolisierung des Digitoxins um einen rasch ablaufenden Prozeß handelte. REPKE, 1959 (106), nahm ferner an, daß die Unempfindlichkeit der Ratte gegenüber Herzglycosiden nicht auf eine eigenartige Verstoffwechselung, sondern auf eine spezifische Resistenz des Herzgewebes gegen diese Stoffe zurückzuführen wäre.

Eine weitere Möglichkeit der Metabolisierung, nämlich die der Abspaltung der Desoxyzucker durch Fermente der Leber (104), erklärt die große Anzahl der in Kot und Urin der Ratte nach i.v.-Verabfolgung anfallenden Stoffwechselprodukte. Von 10 Substanzen stellte Digoxigenin-bis-digitoxosid den Hauptanteil, 62 %, gefolgt von Digoxin mit 20 %. Unverändertes Digitoxin erschien, wie auch beim Menschen, nur in geringer Menge (6 %) neben anderen zuckerärmeren Derivaten von Digoxin und Digitoxin (siehe Abb. 1).

Abbauwege des Digitoxins bei der Ratte (Nach Repke 1959)

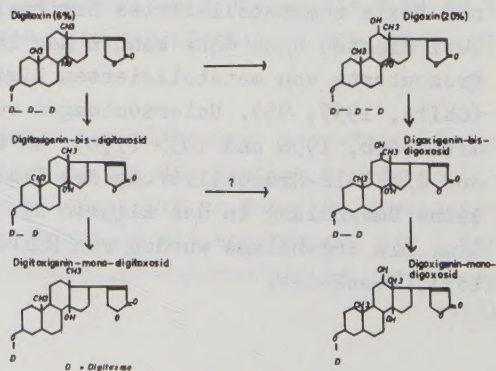


Abbildung 1

Zusammenfassend lassen sich für das Digitoxin zwei Metabolisierungswege abgrenzen:

1. Hydroxylierung am C-12-Atom,
2. Fermentative Hydrolyse der Digitoxose-Kette.

REPKE, 1959 (107), nimmt für den ersten Weg die Existenz einer 12- β -Hydroxylase sowohl für den Übergang von Digitoxin in Digoxin als auch für die direkte Umwandlung Digitoxigenin-bis-digitoxosid in Digoxigenin-bis-digitoxosid an. Der zweite Metabolisierungsweg führt zum Aglucon. Dieses ist jedoch kaum nachweisbar, da in der Folge Epimerisierung und Koppelung an Glucuronsäure eine rasche Ausscheidung bewirken (110,114). Eine weitere Möglichkeit der Geninentstehung ist bei stark aziden Magensäften gegeben (56), auch im Falle des verhältnismäßig resistenten Digitoxins (REPKE, 1959, 106).

LAUTERBACH und REPKE, 1960 (73), untersuchten in vitro die glycosidspaltende Aktivität von Organ-Homogenaten sowie Ratten-Kot. Sie stellten dabei fest, daß die körperfremden Desoxyzucker nicht von mikrobiellen Enzymen, sondern überwiegend von Leber-Fermenten abgespalten werden. Die körpervertraute Glucose dagegen kann nur durch mikrobielle Enzyme der Darm-Flora aus dem Glycosid freigesetzt werden. Diese Erkenntnisse weisen ebenso wie die von OKITA, 1957 (95), die er bei Verteilungsstudien mit ^{14}C -Digitoxin am Menschen gewann, auf die Bedeutung des enterohepatischen Kreislaufes hin. Bei der Ratte werden ca. 10 % bzw. 40 % bzw. 70 % bzw. 70 % bzw. 14 % bzw. 14 % der verabreichten Dosen von Digitoxin bzw. Digoxin bzw. Lanatosid C bzw. Lanatosid A bzw. Digitoxigenin bzw. Digoxigenin durch die Galle in den Darm ausgeschieden (COX und WRIGHT, 1959, 11). Die Untersuchungen aus unserer Abteilung

sprechen dafür, daß ein nicht geringer Anteil dieser nach Anlegung einer Gallenfistel festgestellten Gallenausscheidung später im Darm rückresorbiert wird.

Beim k-Strophanthin ermöglicht das lange Kreisen im enterohepatischen Kreislauf die Abspaltung der beiden Glucose-Moleküle; dadurch entsteht das Cymarin, das die Leberschranke zu passieren vermag (52,100). Die bereits zitierten Untersuchungen von LAUTERBACH und REPKE, 1950 (73), erhärten diese Annahme. Inkubationen von Rattenkot-Homogenaten mit k-Strophanthosid ergaben zu 50 % das Cymarin als Endprodukt, während Digitoxin praktisch unverändert blieb. LAUTERBACH, NITZ und PRESCHER, 1964 (70), stellten ferner fest, daß Cymarin in der Rattenleber zu rund 75 % metabolisiert wird. Durch Reduktion entsteht das Cymarol als Hauptmetabolit. Leberzell-Homogenate waren im Gegensatz zu Leberschnitten nicht in der Lage, die Cymarose aus dem Strophanthosid herauszulösen. Die Geninbildung ist also an die intakte Leberzellstruktur gebunden.

Die Feststellung, daß es in der Metabolisierung von Glycosiden Speciesunterschiede gibt, schwächt die Anschaulichkeit der hier gebrachten Übersicht ab und erschwert die Beurteilung einzelner Arbeiten. So finden HERRMANN und REPKE, 1964 (47), daß die Leber von Kröte, Frosch und Mensch Digitoxin nicht abbauen kann. LAUTERBACH, 1963 (68), ist ferner der Ansicht, daß die beim Meerschweinchen toxikologisch festzustellenden niedrigen Resorptionsquoten durch eine rasche Metabolisierung vorgetäuscht werden. Auf die Speziesunterschiede machen auch GILLISSEN, Hotovy und Lingner, 1964 (40), aufmerksam, die beim Menschen nach Verabfolgung von Digitoxin die unveränderte Substanz im Urin fanden. Diese Tatsache steht wiederum im krassen Gegensatz zu den Untersuchungen von OKITA .

Gleichermaßen differierende Angaben wurden über das Digoxin gemacht. Die Behauptung, daß es im menschlichen Körper so gut wie keiner Verstoffwechselung unterliege (43,83,126), wird durch Metaboliten-Funde mehr oder weniger eingeschränkt, wie in der Diskussion näher ausgeführt werden soll.

METHODIK

A. Substanz

Für unsere Untersuchungen verwendeten wir Digoxin-12-H³(Ξ). Zu seiner Synthese diente als Ausgangsprodukt ein Acetyl-Digoxin, dessen 12-keto-Gruppe durch NaBT₄ zur 12- β -OH - Gruppe reduziert und damit gleichzeitig allein an diesem C-Atom radioaktiv markiert wurde (anders als bei der Methode nach Wilzbach, 99,124). Die spezifische Aktivität betrug 89 μ C/mg. Es darf jedoch nicht verschwiegen werden, daß bei dem hier untersuchten Syntheseprodukt ein durch Austausch bedingter Verlust des Tritium-Atomes nicht ausgeschlossen werden kann, weshalb eine Kontrolle der Messungen mit einer Methode, die sich nicht auf die Radioaktivität der Stoffe stützt, unerlässlich schien.

Der durch Zerstrahlung hervorgerufene Substanzabbau bei längerer Lagerung des radioaktiven Digoxins ist nach FORTH, 1969 (27), SPRATT, 1957 (116) sowie MARCUS et al., 1967 (84), unwesentlich. Sicherheitshalber ließen wir zwischen dem Markierungszeitpunkt und Gabe der Substanz kein längeres Zeitintervall als vier Wochen verstreichen. Der Reinheitsgrad des verabfolgten ³H-Digoxins lag oberhalb der 95 % - Grenze.

B. Probanden

Eine Gruppe von vier Herz- und Nierengesunden erhielt 0,5 mg Digoxin-12-H³ einmalig intravenös. Eine Woche danach

Ξ) Für seine Herstellung und freundliche Überlassung haben wir der Firma Thomae GmbH zu danken.

wurde denselben Personen eine Dosis von 1,0 mg peroral verabreicht. Die Probanden gliedern sich folgendermaßen auf :

Fall F. (38 J. ♂)

Fall K. (67 J. ♀)

Fall R. (60 J. ♂)

Fall Rs. (75 J. ♀).

C. Aufarbeitung von Stuhl und Urin

Der Urin wurde in 4 -, 12 - bzw. 24 -Stunden-Portionen gesammelt. Danach engten wir ihn im Rotationsverdampfer auf ein Volumen von etwa 100 ml ein. Nach Zugabe von Chloroform (1 : 1) schüttelten wir 30 Minuten lang und froren die Emulsion anschließend zur Phasentrennung ein. Dieser Vorgang wurde einmal wiederholt. Nach Reinigung in der Aluminiumoxyd-Säule (siehe hierzu WEISS und Mitarbeiter, 1968, 122), exsiccierten wir im Vacuum bei Raumtemperatur. Das Sediment lösten wir im Chloroform-Äthanol-Gemisch (4 : 1) wieder auf, um damit die dünnschichtchromatographischen Untersuchungen durchzuführen.

Der Stuhl wurde jeweils über 24 Stunden in Kunststoff-Gefäßen gesammelt. Nach Hinzufügen einer inaktiven Digoxin-Trägermenge (250 - 500 y) homogenisierten wir im Alkohol. Anschließend überführten wir den Stuhl in ein Extraktions-Kölbchen und entfernten nach Sedimentierung die alkoholhaltige Phase. Danach wurde zusätzlich eine Chloroform-Extraktion durchgeführt. Die angewandten Volumina für beide Extraktionen lagen zwischen 250 und 500 ml. Die Vorreinigung der Extrakte erfolgte mit Hilfe der präparativen Dünnschicht-Chromatographie (siehe unten) nach Exsiccieren und Wiederauflösen des Sedimentes in Chloroform-Äthanol (4 : 1). Danach wurde wie oben verfahren.

D. Dünnschicht-Chromatographie

a) Plattenherstellung

Wir benutzten Kieselgel-G (Merck), um mit Hilfe des Beschichtungsgerätes der Firma Desaga 20 x 20 cm große Glasplatten mit einer 0,25 mm dicken Schicht zu überziehen.

b) Vorreinigung der Stühle

Größere Flüssigkeitsmengen bis zu 4,0 ml ließen sich kontinuierlich bandförmig an der Startlinie verteilen. So bot sich die günstige Gelegenheit, die Stühle, die nach dem Ausschütteln mit Chloroform und Alkohol und der nachfolgenden Eintrocknung noch stark gefärbt und fadenziehend waren, auf eine zeitsparende Weise von den Schlackenstoffen zu befreien. Diese sammelten sich streifenförmig unmittelbar hinter der Fließmittelfront an und konnten am Ende des Entwicklungsvorganges leicht entfernt werden. Das Eluat aus dem Material der Restfläche wurde im Vacuumentrockenschrank eingeeengt und dann in der üblichen Weise dem Trennvorgang auf einer neuen Dünnschichtplatte unterworfen. So ließ sich ein langwieriger Reinigungsprozess in Aluminiumsäulen umgehen, der zumindest bei den dickflüssigen Stuhlextrakten Tage in Anspruch genommen hätte und zu großen Substanzverlusten hätte führen können.

c) Auftragung

Extraktmengen bis zu 0,1 ml wurden punktförmig in

einer 1,5 cm vom unteren Plattenrand entfernten Linie auf die Dünnschicht aufgetragen.

d) Fließmittel

Als Fließmittel für die Entwicklung der Herzglycoside auf der Kieselgel-G-Schicht verwendeten wir das von WALDI (bei STAHL, 1967, 121) angegebene Cyclohexan - Aceton-Eisessig-Gemisch im Verhältnis 49:49:2. Frisch bereitet, steigt dieses Mittel in der Schicht der senkrecht aufgestellten Platte schnell auf. Zur Vermeidung von Verunreinigungen entwickelten wir die beschichteten, an der Luft getrockneten Platten vor dem Auftropfen der Substanzen einmal vor.

Mit dem erwähnten Fließmittel weisen die Herzglycoside eine mit abnehmender Wasserlöslichkeit zunehmende Wanderungsgeschwindigkeit auf. Die zuckerlosen Abkömmlinge, die Genine, wandern am schnellsten. Glycoside, die sich nur durch eine OH-Gruppe unterscheiden, also Substanzen mit nur geringem Unterschied der Polarität wie Digoxin und Digitoxin, lassen sich mit diesem Fließmittel gut trennen.

e) Substanznachweis

Zum Sichtbarmachen des Herzglycosides Digoxin und seiner Abbauprodukte auf der Dünnschichtplatte wandten wir das Chloramin-T-Gemisch nach KAISER, 1955 (55), an. Unmittelbar nachdem das Fließmittel im zweiten Entwicklungsgang die Front des ersten Laufes erreicht hatte, wurde die Platte für 10 Minuten im Trockenschrank auf 110 °C erhitzt. Währenddessen setzten wir das Sprühreagens an : 10 ml einer frisch bereiteten wäßrigen Chlor-

amin-Lösung, 3 %, wurden mit 40 ml einer 25 %igen Lösung von Trichloressigsäure in 96 vol%igen Äthanol gemischt, in ein Sprühgefäß (Desaga) eingefüllt und mit Druckluft schonend über die getrocknete Schicht zerstäubt. Im nassen Zustand wurde anschließend die Platte noch einmal für 7 Minuten bei der oben genannten Temperatur in den Trockenofen gebracht. Danach setzten wir sie für zwei Minuten in einem Dünnschichttrog der Atmosphäre einer 25 %igen Ammoniaklösung aus. Während des zehnminütigen Nachtrocknens bei 110°C zeigten sich oft braune Flecke (manchmal auch schon beim Herausnehmen aus der Ammoniakatmosphäre). Unter der Ultraviolett-Lampe konnte man dann bei den Wellenlängen 245 und 365mμ die je nach Konzentration gelb oder grünlich fluoreszierenden Herzsteroid-Flecken ausmachen und auf der Glasrückseite markieren. Braunfärbung und Fluorenzstärke ließen nach einigen Tagen nach.

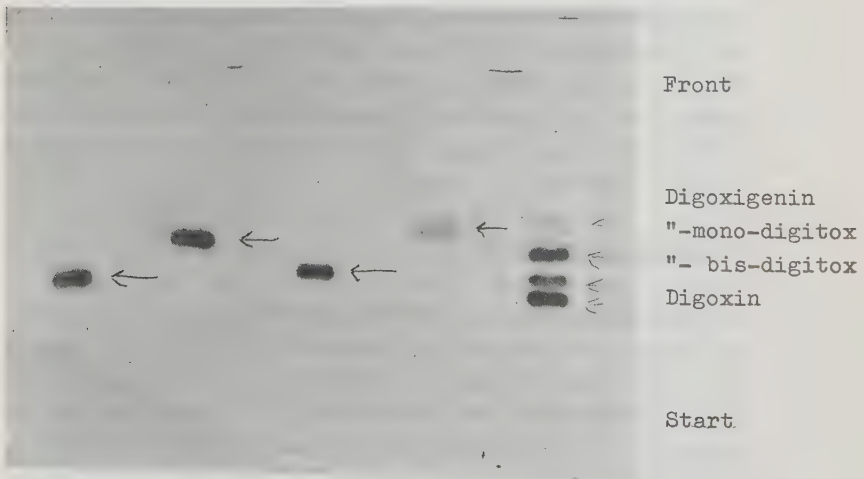


Abb.2: Dünnschichtchromatograph. Auftrennung von Steroiden der Digoxin-Reihe (Laufmittel Cyclohexan-Aceton - Eisessig, Nachweis mit Chloramin-T) ..

Bei jedem Chromatogramm lief als Kontrolle eine bestimmte Menge Digoxin-Reinsubstanz (Merck) auf einer eigenen Bahn mit. Der Identifizierung der Abkömmlinge des Teststoffes diente eine Untersuchung, bei der nebeneinander Digoxin, Digoxigenin-bis-digitoxosid (Boehringer-Mannheim, Card-7 90107), Digoxigenin-mono-digitoxosid (Boehringer-Mannheim, Card-8 90108), Digoxigenin (Merck) und eine Probe mit allen vier Steroiden zusammen aufgetragen und wie üblich entwickelt wurden. Die so ermittelten Rf.-Werte zogen wir zum Vergleich mit den bei den Stuhl- und Urin-Auftrennungen gewonnenen Zahlen heran.

<u>Substanz</u>	<u>Rf.-Wert</u>
Digoxin	0,39 bis 0,42
Digoxigenin-bis-digitoxosid	0,44 bis 0,46
Digoxigenin-mono-digitoxosid	0,49 bis 0,50
Digoxigenin	0,54 bis 0,55

Tab. 1: Dünnschichtchromatograph. Trennung eines Gemisches von Steroiden aus der Digoxin-Reihe (Laufmittel: Cyclohexan-Aceton-Eisessig, Nachweis: Chloramin-T).

Für den Nachweis der Herzsterioide mit Hilfe der Jodfärbung (Merck, Mitteilungen zur DC.VI) entwickelten wir eine Kieselgel-G-Platte mit dem Fließmittel Chloroform - Methanol (92:8) über 105 Minuten. Es wurde dafür gesorgt, daß das Fließmittel am oberen Rand der Trägerplatte in das Kieselgel, das in einen dort angebrachten Trog eingefüllt war, überging. Sofort nach Herausnahme der Platte ohne vorheriges Trocknen wurde eine 1 %ige Jodlösung in Chloroform-Methanol (50:50) aufgesprüht, was zu einer flüchtigen Braunfärbung der Glycosid-Flecke führte.

Die mit dieser Methode erzielte Anfärbung von Herzsteroiden zeigte aber gegenüber Chloramin-T keinen wesentlichen Vorteil. Die Erfassungsgrenze lag in einem höheren Bereich als bei dem zuletzt genannten Verfahren. Die mit Jod gefärbten Flecke erwiesen sich außerdem als sehr flüchtig. Darüberhinaus war bei Anwendung des WALDISchen Fließmittels keine Anfärbung zu bekommen. Aus diesen Gründen gaben wir dem qualitativen Nachweis mit Chloramin-T den Vorzug.

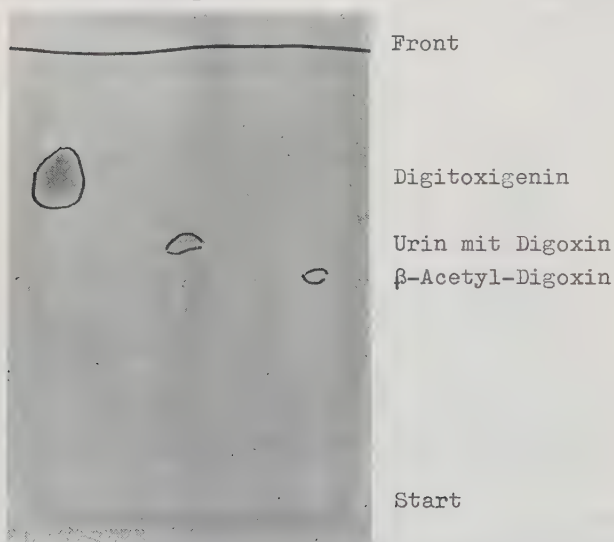


Abb. 2: Glycosianachweis nach der Jodfärbungsmethode
(Laufmittel: Chloroform-Methanol, 92 : 8).

Die chemische Identifizierung führten wir immer gleichzeitig mit der physikalischen durch: Hierzu wurde auf der fertig entwickelten Platte mit jeweils zwei identischen Proben eine davon entsprechend präpariert und der Radioaktivitätsmessung zugeführt (siehe unten). Die dabei

verbleibende unversehrte Dünnschichtfläche färbten wir mit Chloramin-T an.

f) Aktivitätsmessung

Mit Hilfe einer 2,0 cm breiten Schablone wurde das Kieselgel in 0,5 cm - Abständen heruntergeschabt. Das dabei gewonnene Pulver konnte direkt in die Tricarb-Meßfläschchen gegeben und mit 1,0 ml Scintillator-Flüssigkeit versetzt werden. Die Zusammensetzung dieses Scintillators betrug 2,0 l Dioxan, 0,5 g POPOP (1,4 bis-2,5-phenyloxazolylbenzol), 4,0 g PPO (2,5-Diphenyloxazol) und 120,0 g Naphthalin. Beim Einbringen der Gläschen in den Tricarb-Scintillation-Counter (Packard) gefror der Inhalt. Wir ließen deshalb die Behälter vor Beginn der Messung einige Zeit zum Äquilibrieren im Gerät stehen.

Jedes Glas wurde mindestens zehn Minuten gemessen. Der Nullwert, gewonnen an einer Blindprobe, lag bei ca. 30 Impulsen pro Minute. Die Aktivität der Laufstrecke ergab eine Gesamtimpulszahl, die zwischen 60 und 150 000 c.p.m. schwankte. Diese Gesamtaktivität zwischen Start und Front setzten wir als 100 % an. Die einzelnen Aktivitätswerte pro 0,5 cm Bahnstrecke wurden in Prozentanteile am Gesamtwert umgerechnet und als Kurve auf Millimeterpapier über der Laufstrecke aufgetragen. Für jeden Peak ermittelten wir den Rf.-Wert, indem wir die Laufstrecke der höchsten Erhebung des Peaks durch die Länge der Bahn des Fließmittels dividierten. Reines Digoxin-12-H³, das auf jeder Platte neben den jeweiligen Stuhl- bzw. Urin-Aliquots mitlief, gab den Bezugspunkt zur Identifizierung des Hauptpeaks. Waren die ermittelten Peaks nur sehr klein, wurde nach folgenden Kriterien vorgegangen: als signifikant war ein Peak dann anzusehen, wenn die

höchste aufgetretene Impulszahl $N_{\max}$ mindestens um die dreifache Standardabweichung über der Untergrund-Impulszahl N_0 lag. Die Standardabweichung wurde zu $\sqrt{N_{\max}}$ angenommen. Das Signifikanzkriterium war also $N_{\max} - N_0 \geq 3 \sqrt{N_{\max}}$. (*)

Die Ausbeute der dargelegten Aufbereitungsmethode im Tricarb-Scintillation-Counter lag bei 42 %. Im Vergleich dazu liegt die Zählausbeute beim Dünnschicht-Scanner (Berthold) bei etwa 0,6 % (PATAKI, 1966,98), so daß dieses Verfahren bei den unseren Probanden ver-
abfolgten niedrigen Aktivitäten nicht angewandt werden konnte.

g) Zahl der Untersuchungen

Von den Urin- und Stuhl-Portionen wurden insgesamt 73 dünn-schichtchromatographische Untersuchungen durchgeführt.

(*) siehe z.B. BAULE, B., "Die Mathematik des Naturforschers und Ingenieurs", Bd.II, Leipzig 1959

ERGEBNISSE

A. Untersuchung des Urins auf Metaboliten.

Radioaktivitätsverteilung im Dünnschichtchromatogramm.

a) Nach intravenöser Applikation von ^3H -Digoxin.

In der Abbildung 4 wird deutlich, daß durch die Niere überwiegend nicht-metabolisiertes ^3H -Digoxin eliminiert wird.

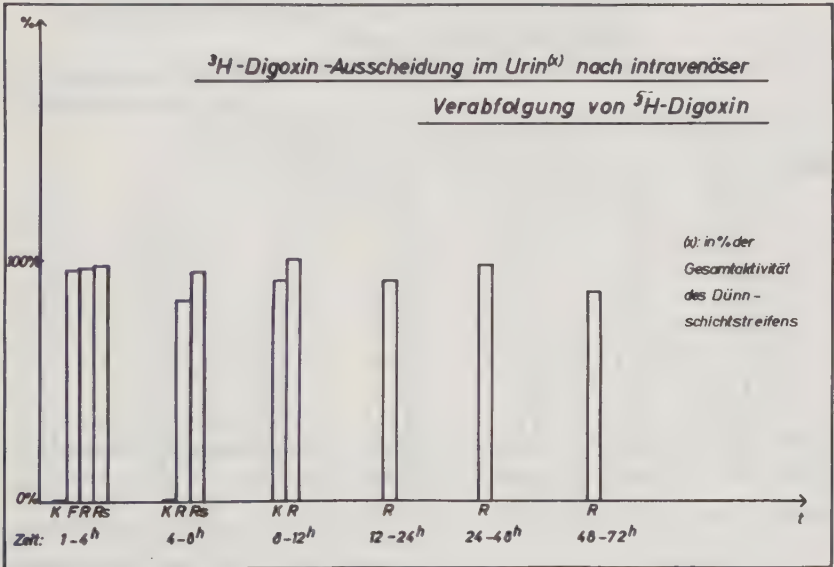


Abb. 4: ^3H -Digoxin-Ausscheidung im Urin nach intravenöser Verabfolgung von ^3H -Digoxin

Aufgetragen sind die Urin-Portionen über drei Tage. Der Anteil der Radioaktivität, der auf das unveränderte Ste-

roid entfällt, bewegt sich in der gesamten Beobachtungszeit um 90 % .

b) Nach peroraler Verabreichung von ^3H -Digoxin

Das auf diesem Wege zugeführte Glycosid wird ebenfalls nur zu einem geringen Teil verstoffwechselt (Abb. 5) .

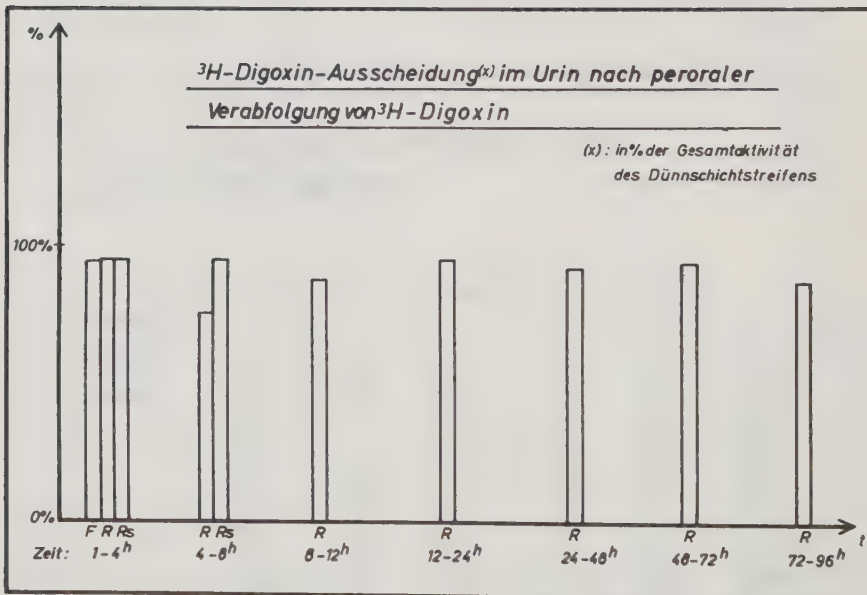


Abb. 5: ^3H -Digoxin-Ausscheidung im Urin nach peroraler Verabfolgung von ^3H -Digoxin

Die Untersuchung erstreckte sich hierbei über 96 Stunden. Es ist kein Abfall des Reinsubstanz-Anteiles zugunsten eines Abbauproduktes festzustellen.

c) Übersicht nach intravenöser und peroraler Gabe von ^3H -Digoxin, mit Ausnahme von Fall K.

Die Tabelle 2 gibt die Minimal- und Maximalwerte des gefundenen ^3H -Digoxins und seiner Abbauprodukte an; sie sind wie sonst als Prozentanteile der Gesamtaktivität eines Chromatogramstreifens zu verstehen. Die Ergebnisse nach den beiden verschiedenen Verabreichungsarten sind hier zusammengefaßt. Der Fall K., der sich mit seinem Verhalten nicht zwanglos in das Gesamtbild einfügt, ist hier nicht berücksichtigt.

Urin-Ausscheidung^(x) von ^3H -Digoxin und dessen ^3H -Metaboliten nach intravenöser und peroraler Gabe von ^3H -Digoxin^(xx)

	<u>2-6 h</u>	<u>6-8 h</u>	<u>8-12 h</u>	<u>12-24 h</u>	<u>24-48 h</u>	<u>48-72 h</u>
^3H -Digoxin	94,3-96,5	78,8-95,0	89,0-100,0	91,0-92,0	92,0-99,0	89,0-95,0
$\bar{x}$ =	95,4	88,5	87,0	93,0	95,5	91,0
^3H -Digoxigenin-bis-digitoxosid	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
^3H -Digoxigenin-mono-digitoxosid	Ø	Ø-4,7	Ø	Ø	Ø	Ø
^3H -Digoxigenin	Ø	Ø-12,3	Ø	Ø	Ø	Ø
Nicht identifizierte Metaboliten:						
Substanz X (Rf 0,59-0,64)	Ø	Ø-2,5	Ø	Ø	Ø	Ø
Substanz Y (Rf 0,65-0,77)	Ø	Ø-2,7	Ø	Ø	Ø	Ø
n =	6	4	2	2	2	2

(x): in % der Gesamtaktivität des Dünnschichtstreifens:

(xx): ausgenommen Fall K g

Ø : Substanzmenge liegt unterhalb der Erfassungsgrenze

Tab. 2: Urin-Ausscheidung von ^3H -Digoxin und dessen ^3H -Metaboliten nach intravenöser und peroraler Gabe von ^3H -Digoxin (ausgenommen Fall K.)

Nur in der 2. Portion, von der 4. bis zur 8. Stunde, sind Metaboliten nachzuweisen. Neben geringen Mengen ^3H -Digoxigenin-mono-digitoxosid und ^3H -Digoxigenin lassen sich zwei weitere Derivate abgrenzen, die wir mit X und Y bezeichnen. Ihre Rf.-Werte liegen im Bereich von 0,59 bis 0,64 bzw. 0,65 bis 0,77.

d) Nach intravenöser ^3H -Digoxin-Zufuhr, Fall K.

Eine Ausnahme bildet Fall K. (Abb. 6) .

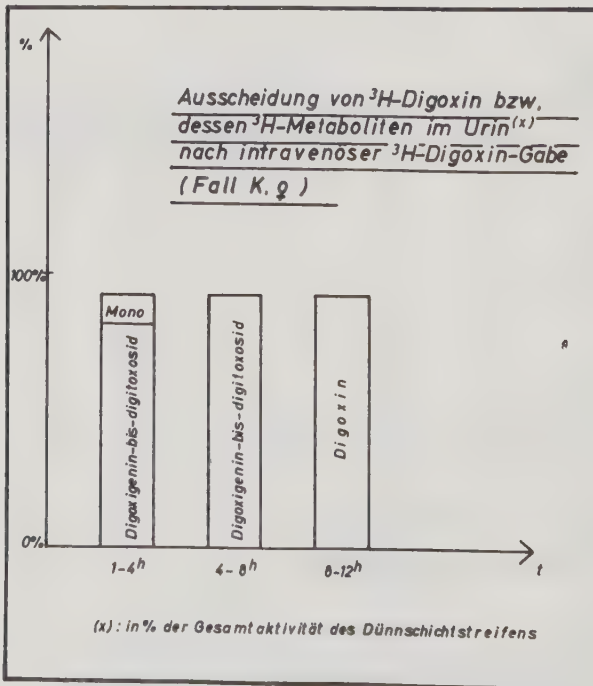


Abb. 6: Ausscheidung von ^3H -Aktivität im Urin von Fall K.

Er scheidet zwar in der dritten Urin-Portion 91 % der Aktivität in Form von ^3H -Digoxin aus; in den ersten beiden 4-Stunden-Abschnitten finden sich jedoch anstelle der ursprünglichen Substanz 81 % bzw. 91 % ^3H -Digoxigenin-bis-digitoxosid. Im ersten Chromatogramm entfallen außerdem 10 % der abgegebenen Aktivität auf ^3H -Digoxigenin-mono-digitoxosid.

B. Untersuchung des Stuhls auf Metaboliten.

Radioaktivitätsverteilung im Dünnschichtchromatogramm.

a) Nach intravenöser Gabe von ^3H -Digoxin (ausgenommen Fall R.)

Ausscheidung von ^3H -Digoxin und dessen ^3H -Metaboliten im Stuhl nach intravenöser Gabe von ^3H -Digoxin

	<u>1. Tag</u>	<u>2. Tag</u>	<u>3. Tag</u>
^3H -Digoxin	Ø	Ø	Ø
^3H -Digoxigenin-bis-digitoxosid	Ø	Ø - 0,3	Ø - 33,4
^3H -Digoxigenin-mono-digitoxosid	22,8 - 94,0	37,9 - 79,2	Ø
^3H -Digoxigenin	Ø	10,7 - 50,2	Ø
<u>Nicht identifizierte Substanzen:</u>			
X (Rf 0,59 - 0,64)	Ø - 52,2	Ø	Ø
Y (Rf 0,65 - 0,77)	Ø	Ø	Ø - 9,2
Z (Rf 0,78 - 0,90)	Ø	Ø	52,2
(xx) A (Rf 0,11 - 0,20)	Ø - 3,7	Ø	Ø
n =	2	2	1

(x): in % der Gesamtktivität des Dünnschichtstreifens, (xx): ausgenommen Fall R Ø

Tab. 3: ^3H -Aktivität nach i.v.-Gabe von ^3H -Digoxin im Stuhl

Unveränderte Substanz ist hier überhaupt nicht nachzuweisen. Die drei zuckerärmeren Komponenten treten dafür in entsprechend größeren Mengen auf. Der Prozentsatz an ^3H -Digoxigenin-bis-digitoxosid ist erst am 3. Tage nennenswert. Die beiden anderen Genine sind zu diesem Zeitpunkt nicht vertreten. Ergänzt wird das Bild durch die Stoffe A und X am ersten, Y und Z am 3. Tage. X und Y wurden bereits im Kapitel Urin-Untersuchungen vorgestellt.

b) Nach peroraler Gabe von ^3H -Digoxin

Ausscheidung von ^3H -Digoxin und dessen ^3H -Metaboliten mit dem Stuhl^(x) nach peroraler Gabe von ^3H -Digoxin

	<u>1. Tag</u>	<u>2. Tag</u>	<u>3. Tag</u>	<u>4. Tag</u>	<u>5. Tag</u>
^3H -Digoxin	Ø	Ø	39,9	Ø	Ø
^3H -Digoxigenin-bis-digitoxosid	Ø-14,9	Ø-39,9	Ø	Ø	Ø
^3H -Digoxigenin-mono-digitoxosid	Ø-72,1	Ø-38,7	Ø-38,3	96,0	Ø
^3H -Digoxigenin	Ø-69,0	23-41,5	Ø	Ø	Ø
Nicht identifizierte Substanzen :					
X (Rf 0,59-0,64)	Ø	Ø- 25,3	Ø	Ø	86,5
Y (Rf 0,65-0,77)	Ø- 67,0	Ø	Ø	Ø	Ø
Z (Rf 0,78-0,90)	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
A (Rf 0,11-0,20)	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
B (Rf 0,21-0,30)	Ø	Ø	Ø	Ø	Ø
n (xx) =	3	2	1	1	1

(x): in% der Gesamtaktivität des Dünnschichtstreifens, (xx): ausgenommen Fall R Ø

Tab. 4: ^3H -Aktivität im Stuhl nach p.o.-Gabe von ^3H -Digoxin

Bis auf den 3. Tag ist kein ^3H -Digoxin-Peak zu messen. Am

ersten Tage können nicht nur die zuckerärmeren Glycoside, sondern auch reines Genin und die Substanz Y in bemerkenswertem Ausmaß festgestellt werden. Am 2. Tage erscheint die Substanz X, die auch am 5. Tage nachzuweisen ist. Von den Steroiden mit geringerem Digitoxose-Gehalt kann nur das Digoxigenin-mono-digitoxosid über den 2. Tag hinaus nachgewiesen werden.

c) Nach intravenöser Zufuhr von ^3H -Digoxin, Fall R.

Ausscheidung von ^3H -Digoxin und dessen ^3H -Metaboliten^(x) mit dem Stuhl nach intravenöser Gabe von ^3H -Digoxin (Fall R, ♂)

	<u>1. Tag</u>	<u>2. Tag</u>	<u>3. Tag</u>	<u>4. Tag</u>
^3H -Digoxin	80,0	86,9	50,0	17,0
^3H -Digoxigenin-bis-digitoxosid	∅	∅	∅	∅
^3H -Digoxigenin-mono-digitoxosid	20,0	∅	∅	40,0
^3H -Digoxigenin	∅	∅	∅	∅
Nicht identifizierte Substanzen:				
X (Rf 0,59 - 0,64)	∅	∅	∅	∅
Y (Rf 0,65 - 0,77)	∅	∅	∅	∅
Z (Rf 0,76 - 0,90)	∅	∅	∅	35,0
A (Rf 0,11 - 0,20)	∅	0,3	27,0	∅

(x): in % der Gesamtaktivität des Dünnschichtstreifens

Tab. 5: Ausscheidung von ^3H -Digoxin und dessen ^3H -Metaboliten mit dem Stuhl nach intravenöser Gabe von ^3H -Digoxin (Fall R.)

Im Stuhl von R. ist eine abnehmende Tendenz des ^3H -Digo-

xin-Anteiles an der Aktivitätsausscheidung wahrzunehmen (Tab. 5) : 80 % am ersten Tage stehen 17 % am 4. Tage gegenüber. Das Gleichgewicht verlagert sich im Laufe des untersuchten Zeitraumes auf die Seite der Abbauprodukte. Während am ersten Tage 20 % der Aktivität auf ^3H -Digoxigenin-mono-digitoxosid entfallen, sind es am 4. Tage 40 %. Am 2. und 3. Tage erscheint ein Derivat mit einem Rf.-Wert 0,11 bis 0,20, von uns A genannt, und am 4. Tage ein weiteres mit Rf. 0,78 bis 0,90, das wir mit Z bezeichnen.

d) Nach peroraler Gabe von ^3H -Digoxin, Fall R.

**^3H -Digoxin- und ^3H -Metaboliten-Ausscheidung im
Stuhl nach peroraler Gabe von ^3H -Digoxin (Fall R δ)**

	<u>1. Tag</u>	<u>2. Tag</u>	<u>3. Tag</u>
^3H -Digoxin	95,7	98,2	69,8
^3H -Digoxigenin-bis-digitoxosid	∅	∅	∅
^3H -Digoxigenin-mono-digitoxosid	∅	∅	∅
^3H -Digoxigenin	∅	∅	47
Nicht identifizierte Substanzen:			
X (Rf 0,59 - 0,64)	∅	∅	∅
Y (Rf 0,65 - 0,77)	∅	∅	∅
Z (Rf 0,78 - 0,90)	∅	0,01	∅
A (Rf 0,11 - 0,20)	0,5	0,01	0,4
B (Rf 0,21 - 0,30)	0,4	0,01	1,5

(x) : in % der Gesamtaktivität des Dünnschichtstreifens

Tab. 6: ^3H -Aktivität im Stuhl nach p.o.-Gabe von ^3H -Digoxin

Bei Fall R. wird auch das enteral zugeführte Glycosid

größtenteils unverändert im Stuhl wiedergefunden (Tab. 6). Wie nach i.v.-Gabe kommt es zu einem leichten Abfall der Werte mit der Zeit. Nur minimale Aktivitäten sind Abbauprodukten zuzuordnen: A und B beanspruchen ca. 1 %, am 2. Tage - wie auch Z - sogar nur 0,01 %.

C. Gegenüberstellung des Substanznachweises durch Radioaktivitätsmessung und der Identifizierung mittels Chloramin-T-Färbung.

a) Stuhl-Untersuchungen nach p.o.- und i.v.-Gabe von ^3H -Digoxin

Aus Tabelle 7 ist ersichtlich, daß die durch Chloramin-T hervorgerufene Fluoreszenz nicht an den gleichzeitigen Nachweis von ^3H -Aktivität gebunden ist. An Stellen mit hoher Impulszahl ist nicht immer eine Anfärbung zu bemerken. Andererseits können auch Abschnitte des Dünnschichtstreifens fluoreszieren, ohne daß dort Aktivität meßbar wäre. Die Rf.-Werte dieser Flecke wiederum fallen stets in solche Bereiche, die in anderen Proben Aktivitätstragenden Ausscheidungsprodukten zugeordnet werden können.

Tab. 7: Radioaktivitätsmessung^{x)} und Chloramin-T-Färbung^{xx)} bei den Stuhlproben nach i.v.- und p.o.-Gabe von ^3H -Digoxin

Substanzen ^{xxx)} :	A	B	Dig.	Bis	Mono	Genin	X	Y	Z
Zeit :									
1.Tag	RP+	RP-	RP+	RP+	RP+	RP-	RP+	RP+	o-
2.Tag	RP+	RP+	RP+	RP+	RP+	RP-	RP+	o+	o+
3.Tag	RP+	RP-	RP+	RP-	RP-	RP+	o+	RP-	RP+

x) RP: radioakt. Peak, o: kein radioakt. Peak

xx) +: Nachweis positiv, -: Nachweis negativ

xxx) In der Reihenfolge ihrer Laufgeschwindigkeiten.

b) Urin-Untersuchungen nach i.v.-Gabe von ^3H -Digoxin

Auch bei den Urin-Proben (Tab. 8) zeigt das Auftreten der Fluoreszenz keinen systematischen Zusammenhang mit der Verteilung der ^3H -Aktivität im Chromatogramm. Die bei Tabelle 7 gemachten Aussagen treffen hier jedoch nur auf ^3H -Digoxin und ^3H -Digoxigenin-mono-digitoxosid zu. Substanz A und B lassen sich in keiner Form nachweisen, ^3H -Digoxigenin-bis-digitoxosid nur mit Hilfe des Scin-tillationszählers, ^3H -Digoxigenin sowie die Substanzen X und Y sowie Z nur unter der UV-Lampe. Daraus wäre die Schlußfolgerung zu ziehen, daß die bei Abb. 6 gemachten Angaben hinsichtlich ihrer absoluten Bedeutung einzu-schränken sind. Nach der Chloramin-T-Färbung scheint nämlich der Digoxin-Anteil auch hier zu überwiegen.

Tab. 8: Radioaktivitätsmessung^{x)} und Chloramin-T-Färbung^{xx)} bei Urin-Proben von Fall K. nach i.v.-Gabe von ^3H -Digoxin

Substanzen ^{xxx)} :	A	B	Dig.	Bis	Mono	Genin	X	Y	Z
Zeit :1.-4.Std	o-	o-	o+	RP-	RP-	o-	o+	o-	o-
4.-8.Std	o-	o-	o+	RP-	o+	o-	o+	o+	o+
8-12.Std	o-	o-	RP+	o-	o-	o+	o-	o+	o+

x) RP: radioaktiver Peak, o: kein radioaktiver Peak

xx) +: Nachweis positiv, -: Nachweis negativ

xxx) In der Reihenfolge ihrer Laufgeschwindigkeiten

DISKUSSION

A. Urin-Befunde

Übereinstimmend mit anderen Autoren (16,21,22) fanden wir, daß Digoxin - bezogen auf die insgesamt im Urin nach Gabe von tritiiertem Digoxin gefundenen Radioaktivität - zum größten Teil unverändert ausgeschieden wird. Der ^3H -Digoxin-Anteil hält sich über die gesamte Beobachtungszeit konstant bei ca. 90 %, unabhängig von der Verabfolgungsart. Die von uns ermittelten Werte stellen relative Anteile an der jeweils ausgeschiedenen Aktivität dar. Dagegen unterscheiden sich die beiden Applikationsarten deutlich in den Absolutmengen der ersten 4 Stunden, wie früher referiert wurde (122).

Entsprechend erscheinen nach i.v.-Verabfolgung von ^3H -Digoxin innerhalb der ersten 24 Stunden rund 30 % (53,81) bis 35 % (16,122) der Dosis im menschlichen Urin. Nach peroraler Gabe sind es 15 % (16) bis 20 % (122), bzw. innerhalb der ersten 3 Tage 37 % (22). Niedrigere Werte stehen bei St.GEORGE et al., z.B. 1958 (119). Das ist wahrscheinlich methodisch bedingt, da sie nicht eine chemische, sondern die biologische Bestimmungsmethode der Arrhythmie-Entwicklung am embryonalen Entenherzen anwenden (31-35). Wie bei allen Untersuchungen, bei denen der Herzglycosid-Nachweis anhand der biologischen Wirksamkeit geführt wird (siehe auch 3,38,42), können nur die eliminierten herzaktiven oder sonst spezifisch wirksamen Substanzen erfaßt werden. Berücksichtigt man die tägliche Abklingquote, die für das Digoxin aufgrund klinischer Erfahrungen zwischen 15 % (41) und 50 % (42) schwankt, ergibt sich aus den oben angeführten Zahlen die Bedeutung der Niere als

Ausscheidungsorgan im Rahmen des gesamten Eliminierungsprozesses dieses Herzsteroides (5,15,16,23). Bei Einschränkung der Nierenfunktion kann es durch die verminderte Exkretion von Herzglycosiden durch die Niere (23,33,35) bei minimaler kompensatorischer Ausscheidung mit dem Stuhl (5,14) zur Kumulation im Organismus kommen. Die Konzentration steigt dann außer im Serum (14) hauptsächlich im Herzmuskel (21,86) an; die Halbwertszeit wird verlängert (13,15,66). In der Niere werden die Herzsteroidoide glomerulär filtriert und teilweise im proximalen Tubulus rückresorbiert (120). In einem gewissen Maße wird die glomeruläre Filtration auch von der Eiweißbindung, die bei den Herzglycosiden bekanntlich stark variiert (39,58,61,63,91,111), beeinflusst (59,75,76).

Ob der Niere eine Rolle bei der Metabolisierung zukommt, ist ungewiß. MARCUS et al., 1966 (86), beobachteten nach Ureter-Ligatur bei Hunden keine Metaboliten im Serum und zogen daraus den Schluß, daß die Niere nicht zum Herzsteroid-Abbau fähig wäre. ABEL et al., 1965 (1), allerdings glaubten, eine extrahepatische Verstoffwechselung annehmen zu müssen, da nach Anlegen eines Leber-Bypass beim Hund der Prozentsatz des unverändert gebliebenen Digoxins im Serum nur auf 65 % gegenüber 40 % beim normalen Tier angestiegen war. Eine Lokalisierung der vermuteten Metabolisierungs-Stätte war ihnen jedoch nicht möglich. Nach LAGE und Mitarbeitern, 1965 (65), ist bei Inkubationen von Herz- und auch Nierengewebescheibchen mit Digoxin Digoxigenin-bis-digitoxosid nachgewiesen worden (siehe auch 117).

Abgesehen von diesen Überlegungen sind die Funde von Ab-

bauprodukten des Digoxins im Urin des Menschen spärlich. Die in unseren Chromatogrammen jeweils neben dem Digoxin-Peak verbleibende Restaktivität von durchschnittlich 10 % war fast gleichmäßig über die übrige Laufstrecke verteilt. Dennoch auftretende Peaks in diesem Bereich, deren Rf.-Werte mit denen von Digoxigenin-bis-digitoxosid, Digoxigenin-mono-digitoxosid, Digoxigenin und den nicht identifizierten Substanzen X und Y übereinstimmten, waren nach ihren Impulszahlen vernachlässigbar.

Am häufigsten tritt in der Literatur der sogenannte Metabolit B in Erscheinung (2,7) . Nach WRIGHT, 1962 (127), ist er mit Digoxigenin-bis-digitoxosid identisch. Sein Anteil an der nach peroraler Gabe im Urin des Menschen auftretenden Aktivität beträgt nach DOHERTY et al., 1961 (22), 1 bis 2 % , nach MARCUS et al., 1966 (80), 11 % , neben 3,5 % Digoxigenin-mono-digitoxosid. Oft sind die Ausführungen allgemeiner gehalten. So fingen MARCUS et al., 1964 (83), die zu Digoxin-Metaboliten gehörige ^3H -Aktivität in verschiedenen konzentrierten Äthanol-Gemischen auf und erhielten, zusammen mit den wasserlöslichen Metaboliten, einen Prozentsatz von etwa 6 , ohne eine weitere Aufschlüsselung vorzunehmen. Dabei ist nicht ausgeschlossen, daß sich in der wasserlöslichen Phase eventuell neben Glucuronsäure- und Schwefelsäure-Konjugaten (49) auch Aktivität befindet, die durch Tritium-Austausch in das Wasser gelangt ist. OKITA, 1964 (93), zählt als Metaboliten neben Digoxigenin-bis-digitoxosid, Digoxigenin-mono-digitoxosid und Digoxigenin drei weitere nicht identifizierte auf, von denen einer stark polar sein soll . Bei Tier-Versuchen konnten ASHLEY et al., 1958 (2), keinen Unterschied der Metaboliten-Ausscheidung im Urin von Ratte und Mensch feststellen. SHEPHEARD und Mitarbeiter,

1954 (114), fanden neben einem - nicht näher bestimmten-Digoxin-Metaboliten nur 6 % (auf die Dosis bezogen) unverändert mit dem Urin ausgeschiedenes Digoxin. Da insgesamt 10 % der Dosis im Urin nachgewiesen wurden - das ist erheblich weniger als beim Menschen - , entspräche das einem Anteil von 40 % Metaboliten.

Eine höhere Metaboliten-Rate im Urin bietet auch einer unserer Probanden. Seine ersten beiden Urin-Portionen enthalten kein Digoxin, sondern vorwiegend zwei Abbauprodukte (Abb. 6). Nach der 8. Stunde erscheint wie bei den anderen nur noch radioaktiv markierte unveränderte Substanz. Bemerkenswert ist allerdings, daß mit der Chloramin-T-Färbung im Digoxin-Bereich Fluoreszenzflecken, auch vor der 8. Stunde, gesehen werden. Unter Berücksichtigung der hier infrage kommenden Erfassungsgrenze ist in diesem Falle eine Demarkierung des Digoxins und damit Vortäuschung einer veränderten Metaboliten-Konstellation nicht auszuschließen.

In diesem Zusammenhang ist ein Fall erwähnenswert, den LUCHI und Mitarbeiter, 1958 (79), beschreiben : ihr Patient entwickelte zu einem bestimmten Zeitpunkt seines Krankheitsverlaufes (Mitralstenose) eine überschießende Fähigkeit, die Zucker des Digoxins abzuspalten und den Lacton-Ring zu hydrogenieren. Von der im Urin in 24 Stunden wiedergefundenen ^3H -Aktivität, 26 % der peroralen Dosis, waren 43 % Digoxin, Digoxigenin-bis-digitoxosid und Digoxigenin-mono-digitoxosid zusammen zuzuordnen; weitere 43 % dem Digoxigenin sowie Dihydro-Digoxigenin. 24 % verteilten sich noch auf die Strecke zwischen Startlinie des Chromatogrammes und Digoxin-Peak.

Neben dem erwähnten Krankheitsbild bestand auch noch eine

ungewöhnlich große Digoxin-Bedürftigkeit. Der Patient erhielt neben dem Digoxin außerdem noch ein anderes Medikament (siehe hierzu 85). Deshalb erscheint es nicht gerechtfertigt, direkte Parallelen zu unseren Probanden zu ziehen.

B. Stuhl-Befunde

Unsere Probanden schieden im Stuhl Digoxigenin-bis-digitoxosid, Digoxigenin-mono-digitoxosid, Digoxigenin sowie folgende nicht identifizierte Substanzen aus : A, B, X, Y und Z. Eine klar definierbare Mengenaufteilung oder ein zeitliches Schema sind nicht zu ermitteln.

Der Grund für das vielfältige Angebot von Stoffwechselprodukten im Stuhl ist in der Struktur der Herzsteroide allgemein und speziell des Digoxins zu suchen, welche den Leber-Fermenten Angriffspunkte bietet und eine Einschleusung in den entero-hepatischen Kreislauf (67,71,123,128) erlaubt.

Die Leber nimmt in der Elimination der Herzglycoside eine Schlüsselfunktion ein (17,21,22,25,69). Sie zeigt für diese Substanzen eine starke Bindungsfähigkeit (34,39,108) - neben einigen anderen Organen, wie hauptsächlich Niere, Herz, Nebenniere und Darmanteilen (4) -. Die Aufnahme in ein Organ muß jedoch nicht immer dessen Bedeutung entsprechen. So ist die Aufnahme in das Myokard nicht so ausgeprägt, wie man früher glaubte (12, 20,26,41,59,94,95,96,102,109,115 bzw. 23,44,90) , und nicht gleichbedeutend mit Herzwirksamkeit (19).

Die Abbaufähigkeit der Leber kann unter Umständen so

stark sein, daß ein Vielfaches der letalen Dosis enteral vertragen wird (68,74). FORTH et al., 1969 (29), haben bei ihren Untersuchungen gefunden, daß die Digoxin-Konzentration in der Pfortader unmittelbar nach Angebot an den Darm viel höher war als im arteriellen Blut. Zu einer Angleichung der Konzentrationen kommt es erst zu einem wesentlich späteren Zeitpunkt. Die Leber stellt also eine Barriere dar.

Nach Angaben in der Literatur entstehen folgende Abbauprodukte des Digoxins in der Leber und werden teilweise mit der Galle ausgeschieden : Digoxigenin-bis-digitoxosid (11), Digoxigenin-mono-digitoxosid (86), Digoxigenin, konjugiert (49) und unkonjugiert (64,125, 126), Dihydro-Digoxigenin (1). Nach LAUTERBACH, 1969 (69), erreicht die Digoxin-Konzentration bei der Ratte und beim Meerschweinchen nach intravenöser Gabe durch Sekretion ins Darmlumen dort erheblich höhere Werte als im Blut. Sowohl im Dünndarm wie auch im Dickdarm kann eine Rückresorption stattfinden (24), siehe auch (30); ganz abgesehen davon, daß die für die gebräuchlichen Herzglycoside angebotenen Lösungsmittel in verschiedener Art und Weise die Resorptionsvorgänge beeinflussen (siehe hierzu 88). Zu einem Abbau des Digoxins in der Darmwand kommt es nach FORTH et al., 1969 (29), nicht, während LAUTERBACH et al., 1960 (73), beim Digitoxin eine fermentative teilweise Spaltung im Dünndarm für möglich halten. Nachgewiesen werden konnten bisher die Abspaltung von Hexosen durch Bakterien des Stuhls und von Acetyl-Gruppen (73,87,113).

Bei unseren Ergebnissen können wir nichtausschließen, daß entweder durch Magensaft (56) oder im Darm durch cellulolytische Fermente (24,52,73,100) ein Abbau ein-

getreten ist. Die Metaboliten-Anteile, die wir finden, sind größer als allgemein in der Literatur angegeben. Die im menschlichen Stuhl nach peroraler ^3H -Digoxin-Gabe ermittelte ^3H -Aktivität, ca. 1/3 der Dosis, verteilt sich nach MARCUS, 1966 (80), auf 19,4 % Digoxigenin-mono-digitoxosid, 19,7 % Digoxigenin-bis-digitoxosid neben 44,2 % Digoxin. Bei einem Stuhl-Anteil von 14,8 % der Dosis über 8 Tage sind nach MARCUS et al., 1964 (83), 6,3 % der täglichen Ausscheidung als wasserlösliche Metaboliten einzuordnen. Beim Hund liegt der Wert dieser Substanzen im Stuhl höher (84) .

Von unseren Versuchspersonen gab Fall R. nach i.v. - und p.o.-Gabe fast ausschließlich Digoxin neben nur geringen Mengen Digoxigenin-mono-digitoxosid bzw. Substanz A im Stuhl ab. Offensichtlich liegt hier eine schwächere Metabolisierungsfähigkeit gegenüber den anderen Probanden vor. Aus dem bisher Gesagten geht hervor, daß die Biotransformation der Herzglycoside hauptsächlich in der Leber abläuft. Es ist ein für die Klinik bedeutsames Problem, wie weit eine Variante der Verstoffwechselung in der Leber durch einen veränderten Anfall von Metaboliten den Organismus beeinflußt; als Beispiel seien die von einigen Autoren zitierten durch Genine bedingten zentralnervösen Schädigungen erwähnt (37,51,79) .

Beim Menschen konnte nachgewiesen werden, daß die Leber unmittelbar nach der Geburt zu keinerlei Metabolisierung des Digoxins in der Lage ist. Dieser Zustand ist auf etwa das erste halbe Jahr beschränkt (45) . Eine erhöhte Toxizität wurde nicht registriert; im Gegenteil, es wurde wiederholt (mit einigen einschränkenden

Stimmen): berichtet, daß Säuglinge im ersten Lebensmonat im Vergleich zum Erwachsenen mehr Digoxin brachten (45). Bei Erwachsenen, deren Leberfunktion infolge Zirrhose eingeschränkt war, haben sich bisher keinerlei Veränderungen der Digoxin-Elimination gezeigt - dagegen beim Digitoxin (36,89), zitiert bei (112). Eine bei Lebererkrankungen vielfach verstärkte Digitalis-Empfindlichkeit entsteht möglicherweise nicht aufgrund einer Kumulation, sondern einer Hypokaliämie (81, siehe auch 82). Eine teilweise Kompensation der als Folge einer Insuffizienz ausgefallenen Funktionen der Leber hat man beim Menschen für das Peruvosid in Form einer gesteigerten Ausscheidung über die Niere gesehen (66). Ähnliches wurde im Tierversuch mit Digitoxin festgestellt (44,118).

Die Metaboliten des Digoxins, die sich nach Ausschaltung der Hunde-Leber durch eine Bypass-Operation durch Ausfall der exkretorischen Funktion der Leber im Serum anschoppen, schließen Digoxigenin-bis-digitoxosid, Digoxigenin-mono-digitoxosid, Digoxigenin und Dihydro-Digoxigenin ein (1). Von diesen genannten Stoffwechselprodukten konnten wir die drei ersten, wie oben angeführt, bei unseren Probanden im Stuhl nachweisen. Die übrigen von uns gefundenen Substanzen haben wir bisher nicht identifiziert. Substanz A und B fallen durch ihre gegenüber den anderen kleine Wanderungsgeschwindigkeit auf. Es ist anzunehmen, daß sie stärker polar sind als das Digoxin. Allgemein läßt sich die Polarität eines Steroides durch Reduktion des C/O-Verhältnisses erhöhen. Das Digoxin bietet keinen Angriffspunkt etwa in Form einer Aldehyd- (70) oder Acetyl-Gruppe (57), (siehe auch 28). Über die Oxydation des cis-ständigen C3-Hydroxyls unter Bildung von 3-dehydro-Genin mit anschließender Re-

duktion der Keto-Gruppe kann ein kardioinaktives 3-epi-Derivat entstehen (48). In dieser Form ist es der Kopplung mit Glucuron- oder Schwefelsäure zugänglich (46,49); auch aus nicht epimerisierten Geninen entstehen Konjugate. Nach diesen theoretischen Erwägungen müßten die Substanzen A und B am ehesten in diese Gruppe eingereiht werden.

Zum Nachweis einer Veränderung des Lacton-Ringes (77) könnte das Verfahren von KEDDIE herangezogen werden, das den α , β -ungesättigten Lacton-Ring anzeigt (1,68,77). Wie die oben erwähnten Autoren fanden LUCHI et al., 1968 (79), Dihydro-Digoxigenin im Urin. Von Interesse ist, daß in dem von ABEL und Mitarbeitern, 1965 (1), verwandten Fließmittel die Substanzen Digoxin, Digoxigenin-bis-digitoxosid, Digoxigenin-mono-digitoxosid und Digoxigenin die gleiche Reihenfolge und fast die gleichen Rf.-Werte hatten wie bei uns. Dihydro-Digoxigenin lief mit einem Rf.-Wert von nahezu 1,00 am schnellsten, ist danach also stark apolar. Eine Identität mit Substanz Z wäre nachzuprüfen.

Was die anderen offensichtlich apolaren Derivate, X und Y, betrifft, bieten sich folgende Überlegungen an: Das Potential der OH-Gruppen ist mit Abspaltung der Desoxy-Zucker (50,72,73) erschöpft. Es ist nicht anzunehmen, daß die OH-Gruppe am C12 abgebaut wird, denn gerade dieses Prinzip hat sich zur Steigerung der Ausscheidungsfähigkeit am Beispiel des Digitoxins als sehr wirksam erwiesen (8,48). Die Bindungsenergie einer einzigen OH-Gruppe am Steran-Ring ist bedeutend größer als die der zahlreichen in den Digitoxosen gebundenen. Die Abspaltung der OH-

Gruppe am C12 müßte zu einem Verlust des Tritiums führen. Manchmal sahen wir im Bereich der hohen Rf.-Werte einen Fluoreszenz-Fleck ohne korrespondierenden Aktivitäts-Peak. Wir haben keinen Anlaß anzunehmen, daß es sich hier um eine normalerweise im Urin vorkommende Substanz handelt, die wie die Herzglycoside auf Chloramin-T anspricht (6) ; die erwähnte Diskrepanz zwischen Aktivitäts- und Fluoreszenz-Nachweis dürfte vielmehr von der Relation zwischen radioaktivem und -inaktivem Substanzanteil des jeweiligen Fleckes herrühren, da in einem anderen Chromatogramm am entsprechenden Substanzort auch Aktivität ohne Fluoreszenz auftrat (siehe Tab.7 und 8).

Unsere kombinierte Untersuchungsmethode hat den Nachweis erbracht, daß trotz der oft zitierten geringfügigen Metabolisierungsrate des Digoxins beim Menschen insgesamt 8 verschiedene Abbauprodukte zu unterscheiden sind ; bei einigen von ihnen steht die nähere Bestimmung noch aus. Darüberhinaus sind Varianten aufgedeckt worden, die das allgemeine Maß nach oben wie unten weit überschreiten; ihre Einflußnahme auf das Schicksal des Digoxins im Organismus und damit seine pharmakologische Wirksamkeit ist noch nicht zu überblicken.

ZUSAMMENFASSUNG

Ca. 0,5 mg Digoxin-12-H³ wurden 4 Probanden einmalig i.v., nach etwa einer Woche in einer Dosierung von ca. 1,0 mg p.o. verabreicht. In den anschließend gesammelten Urin- und Stuhl-Portionen trennten wir das Digoxin von seinen Abbauprodukten auf Dünnschicht-Platten und bestimmten die entsprechenden Aktivitätsmengen pro Fleck im Packard-Scintillation-Counter. Gleichzeitig erfolgte der Fluoreszenz-Nachweis unter UV-Licht nach Behandeln mit Chloramin-T-Reagens.

Im Urin erscaien im wesentlichen nur das unveränderte Glycosid, unabhängig von der Applikationsart. Ein Fall wich hiervon ab; er schied beträchtliche Mengen Digoxigenin-bis-digitoxosid bzw. Digoxigenin-mono-digitoxosid aus.

Im Stuhl wurden meist nur Metaboliten ausgeschieden, d.h. Digoxigenin-bis-digitoxosid, Digoxigenin-mono-digitoxosid, Digoxigenin und 5 nicht identifizierte Substanzen. Auch hier gab es einen abweichenden Fall, bei dem hauptsächlich unverändertes Digoxin festzustellen war.

Insgesamt sind aus unseren Untersuchungen folgende Punkte hervorzuheben :

1. Abgesehen von Ausnahmefällen ist die Metabolisierungsquote von Digoxin im menschlichen Organismus sehr gering.
2. Die Metaboliten werden überwiegend mit dem Stuhl ausgeschieden.
3. Außer den bisher bekannten Metaboliten sind weitere gefunden worden, deren Identifizierung noch aussteht.

LITERATUR

- 1 Abel, R.M.
Luchi, R.J.
Peskin, G.W.
Conn, L.D.
Miller, H.L. "Metabolism of digoxin: role of the liver in tritiated digoxin degradation!"
J Pharmacol Exper Therap 150, 463-468 (1955)
- 2 Ashley, J.C.
Brown, B.T.
Okita, G.T.
Wright, S.E. "The metabolites of cardiac glycosides in human urine."
J Biol Chem 232, 315-321 (1958)
- 3 Belz, G.G. "Über klinische quantitative Untersuchungen herzwirksamer Glycoside!"
Med Welt 35, 1898-1903 (1969)
- 4 Binnion, P.F. "Plasma levels and tissue distribution of ³H-digoxin."
Brit Heart J 30, 871 (1968)
- 5 Bloom, P.M. "Relationship of the excretion of tritiated digoxin to renal function!"
Amer J Med Sc 251, 133-144 (1966)
- 6 Brown, B.T.
Ranger, D.
Wright, S.E. "The excretory products of lanatosid-C and digitoxin in the rat. "
J Pharmacol Exper Therap 113, 353-357 (1955)
- 7 Brown, B.T. "The distribution of digitalis glycosides and their metabolites within the body of the rat."
J Pharmacol Exper Therap 118, 39-45 (1956)
- 8 Brown, B.T.
Wright, S.E.
Okita, G.T. "C-12-Hydroxylation of digitoxin."
Nature (Lond.) 180, 607-608 (1957)
- 9 Chen, K.K. "Possibilities of further developments in the glycoside field by modifying the glycoside structure!"
New Aspects of Cardiac Glycosides, ed. W.Wilbrandt, Proc of the first Internat Pharmacol Meeting, Vol 3, 27-41, Pergamon Press, N.Y. (1963)

- 10 Cloetta, M. "Die Darstellung und chemische Zusammensetzung der aktiven Substanzen aus den Digitalisblättern, ihre pharmakologischen und therapeutischen Eigenschaften." Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 112, 261-342 (1926)
- 11 Cox, E.
Wright, S.E. "The hepatic excretion of digital glycosides and their genins in the rat." J Pharmacol Exper Therap 126, 117-122 (1959)
- 12 Doherty, J.E. "Tissue concentration and turnover of tritiated digoxin in dogs." Amer J Cardiol 17, 47-52 (1966)
- 13 Doherty, J.E. "The excretion of tritiated digoxin in normal human volunteers before and after unilateral nephrectomy." Circulation 40, 555-561 (1969)
- 14 Doherty, J.E.
Flanigan, W.J.
Perkins, W.H.
Ackermann, G.L. "Studies with tritiated digoxin in anephric human subjects." Circulation 35, 298-303 (1967)
- 15 Doherty, J.E.
Flanigan, W.J. "Tritiated digoxin in human subjects following renal transplantation." Clin Res 15, 25 (1967)
- 16 Doherty, J.E.
Perkins, W.H. "Studies with tritiated digoxin in human subjects after intravenous administration." Amer Heart J 63, 528-536 (1962)
- 17 Doherty, J.E.
Perkins, W.H. "Tritiated digoxin turnover in tissue of dogs." Clin Res 12, 54 (1964)
- 18 Doherty, J.E.
Perkins, W.H. "Studies following intramuscular administration of tritiated digoxin in human subjects." Amer J Cardiol 15, 170-174 (1965)

- Doherty, J.E.
Perkins, W.H. "Digoxin metabolism in hypo- and hyperthyroidism. Studies with tritiated digoxin in thyroid disease." Ann Intern Med 64, 489-507 (1966)
- Doherty, J.E.
Perkins, W.H. "Tritiated digoxin turnover in pulmonary heart disease with congestive heart failure." Clin Res 15, 54 (1967)
- Doherty, J.E.
Perkins, W.H.
Flanigan, W.J. "The distribution and concentration of tritiated digoxin in human tissues." Ann Intern Med 66, 116-124 (1967)
- Doherty, J.E.
Perkins, W.H.
Mitchell, G.K. "Tritiated digoxin studies in human subjects." Arch. intern Med 108, 531-539 (1961)
- Doherty, J.E.
Perkins, W.H. "Studies with tritiated digoxin in renal failure." Amer J Med 37, 536-544 (1964)
- Engler, R.
Holtz, P.
Raudonat, H.W. "Über die Spaltung herzwirksamer Glycoside im Tierkörper." Naunyn-Schmiedeberg's Arch exp Path Pharmac 232, 393-408 (1958)
- Farah, A.
Smuskowicz, F. "The effect of liver damage on the activity of G-strophanthin in the rat." J Pharmacol Exper Therap 96, 139-143 (1949)
- Fischer, C.S.
Sjoerdsma, A.
Johnson, R. "The tissue distribution and excretion of radioactive digitoxin: Studies on normal rats and cats with dietary induced myocardial lesions." Circulation 5, 496-503 (1952)
- Forth, W.
Furukawa, E.
Rummel, W. "Intestinal absorption of cardiac glycoside in vitro and in vivo." Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 262, 53-72 (1969)

- 28 Forth, W.
Glasner, H.
Andres, H.
"Zur Resorption freier und konjugierter Gallensäuren im Dünndarm der Ratte in vitro und in vivo."
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 262, 53-72 (1969)
- 29 Forth, W.
Furukawa, E.
Rummel, W.
Andres, H.
"Die Bestimmung der intestinalen Resorption von Herzglycosiden durch Messung der ³H-markierten Glycoside im Portalvenenblut und in der Darmlymphe bei Katzen."
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 264, 406-419 (1969)
- 30 Forth, W.
Rummel, W.
"Vergleichende Untersuchungen der intestinalen Resorption von ³H-markierten Herzglycosiden in vitro und in vivo."
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 260, 112-114 (1968)
- 31 Friedmann, M.
Bine, R.
"A study of the rate of disappearance of a digitalis glycoside (lanatoside-C) from the blood of man."
J clin Invest 28, 32-34 (1949)
- 32 Friedmann, M.
Bine, R.
Byers, S.O.
"Urinary excretion of digitoxin in the rat."
Proc Soc exp Biol (N.Y.) 71, 406-407 (1949)
- 33 Friedmann, M.
Byers, S.O.
Bine, R.
Bland, C.
"Renal excretion of digitoxin in man following oral administration."
Proc Soc exp Biol (N.Y.) 72, 468-470 (1949)
- 34 Friedmann, M.
St. George, S.
Bine, R.
Byers, S. O.
Bland, C.
"Deposition and disappearance of digitoxin from the tissues of the rat, rabbit, and dog after parenteral injection."
Circulation 6, 367-370 (1952)
- 35 Friedmann, M.
St. George, S.
Bine, R.
Byers, S.O.
Bland, C.
"The renal excretion of digitoxin in the acute and chronic cardiac patient."
Circulation 6, 853-857 (1952)

- 36 Fujino, S. "Electrocardiographic studies on the influence of liver upon the cardiac action of digitoxin." 1. On the change in the cardiac action of digitoxin caused by the blockade of the portal circulation Sapporo Medical Journal 9, 192-202 (1956)
- 37 Gaitonde, B.B.
McCarthy, L.E.
Borison, H.L. "Central emetic action and toxic effect of digitalis in cats." J Pharmacol Exper Therap 147, 409-415 (1965)
- 38 Ganz, A.
Fujimori, H.
Penna, M.
Greiner, T.
Gold, H. "Intramuscular administration of digoxin in propylene glycol." Proc Soc exp Biol (N.Y.) 95, 349-350 (1957)
- 39 Giertz, H.
Hahn, F.
Schunk, R. "Über die Bindung und Elimination von Herzglycosiden in der Leber und Niere von Meerschweinchen." Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 221, 34-49 (1954)
- 40 Gillissen, J.
Hotovy, R.
Lingner, K. "Resorption und Abbau herzwirksamer Glycoside." Arzneimittel Forsch 14, 335-338 (1964)
- 41 Gillmann, H.
Grosse-Brockhoff, F. "Die Therapie mit Herzglycosiden." Dtsch med Wschr 88, 1, 1-18 (1963)
- 42 Gold, H.
Cattel, H.
Greiner, Th.
Hanlon, L.W.
Kwit, N.T.
Modell, W.
Cotlove, E.
Benton, J.
Otto, H.L. "Clinical pharmacology of digoxin." J Pharmacol Exper Therap 109, 45-57 (1953)
- 43 Gonzales, L.F.
Layne, E.C. "Studies on tritium-labelled digoxin: tissue, blood, and urine determination." J Clin Invest 39, 1578-1583 (1960)

- 44 Hatcher, R.A.
Eggleston, C. "Studies in the elimination of certain of the digitalis bodies from the animal organism."
J Pharmacol Exper Therap 12, 405-501 (1919)
- 45 Hernandez, A.
Burton, R.M.
Pagtakhan, R.D.
Goldring, D. "Pharmacodynamics of ^3H -digoxin in infants."
Pediatrics 44, 418-428 (1969)
- 46 Herrmann, I.
Repke, K. "Über das Glucuronsäurekonjugat eines Cardenolidgenins(3Epidigitoxigenin)."
Experientia(Basel)19, 472-474(1963)
- 47 Herrmann, I.
Repke, K. "Entgiftungsgeschwindigkeit und Kumulation von Digitoxin bei verschiedenen Species."
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 247, 19-34 (1964)
- 48 Herrmann, I.
Repke, K. "Epimerisierung und Hydroxylierung von digitaloiden Steroidlactonen durch Fermente der Leber."
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 248, 351-369 (1964)
- 49 Herrmann, I.
Repke, K. "Konjugation von Cardenolidgeninen mit Schwefelsäure oder Glucuronsäure."
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 248, 370-386 (1964)
- 50 Herrmann, I.
Repke, K. "Speciesunterschiede in der Bio-transformation von Digitoxin."
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 247, 35-48 (1964)
- 51 Hoffmann, G.
Lendle, L. "Kritisches zur Digitalisauwertung am Meerschweinchen."
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 212, 376-385 (1951)
- 52 Holtz, P. "Resorption, Spaltung und Ausscheidung von K-Strophanthin bei Ratte
Klin Wschr 36, 238-239 (1958)

- 53 Jelliffe, R.W. "A chemical determination of urinary digitoxin and digoxin in man" J Lab clin Med 67,II,694-708(1966)
- 54 Jensen, U.B. "Paper chromatography of cardiac glycosides and aglycones from digitalis purpurea." Acta pharmacol (Kbh)2,99-108(1953)
- 55 Kaiser, F. "Papierchromatographische Trennung von Herzglycosiden." Chem Ber 88, 556-563 (1955)
- 56 Kasahara, K.
Ruiz-Torres, A. "Einwirkung der Verdauungssäfte auf die Beständigkeit des Digoxin- und Digitoxin-Moleküls." Klin Wschr 47, 1109-1113 (1969)
- 57 Kraupp, O.
Raberg, G.
Grossmann, W. "Blut- und Gewebsspiegelkurven sowie renale Ausscheidung von - Azetyldigoxin bei i.v.-Darreichung am Hund." Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 260,330-341 (1968)
- 58 Kuschinsky, K. "Bestimmung der Eiweißbindung verschiedener Herzglycoside mittels Sephadex-Gelfiltration." Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 259,394-399 (1968)
- 59 Kuschinsky, K. "Zur Frage der Kumulation von Herzglycosiden." Dtsch med Wschr 93,2344-2347(1968)
- 60 Kuschinsky, K.
Langen, K.G.
Scholtissek, Ch.
Turba, F. "Untersuchungen zum Wirkungsmechanismus der Digitalisstoffe." Biochem Z 327, 314-330 (1955)
- 61 Kuschinsky, K. "Über die Bindungseigenschaften von Plasmaproteinen für Herzglycoside." Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 262,388-398 (1969)

- 62 Kuschinsky, K.
Lahrtz, H.G.
Lüllmann, H.
v.Zwieten, P.A. "Accumulation and release of ^3H -digoxin by guinea-pig heart muscle."
Brit J Pharmacol 30, 317-328 (1967)
- 63 Kuschinsky, K.
v.Zwieten, P.A. "Über das Verhalten von Digoxin, Digitoxin und Digitoxigenin in isoliertem Herzgewebe und im Plasma von Meerschweinchen nach Reserpin-Vorbehandlung."
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 262, 463-473 (1969)
- 64 Lage, G.L. "Species and sex variation in the hepatic metabolism of ^3H -digoxin in vitro."
J Pharmacol Exper Therap 159, 182-193 (1968)
- 65 Lage, G.L.
Spratt, J.L. " ^3H -digoxin metabolism by adult male rat tissue in vitro."
J Pharmacol Exper Therap 149, 248-256 (1965)
- 66 Lahrtz, H.G.
v.Zwieten, P.A.
Eickenbusch, M. "Serumspiegel und Ausscheidung eines ^3H -markierten Herzglycosides bei eingeschränkter Leber- oder Nierenfunktion."
Radionuklide in der Kreislaufforschung, Schattauer Verlag, Stuttgart, New York, 427-429 (1968)
- 67 Lauterbach, F. "Über Mechanismus und Umfang der enteralen Resorption und den enterohepatischen Kreislauf von Herzglykosiden."
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 245, 67-68 (1963)
- 68 Lauterbach, F. "Über die Bedeutung der Metabolisierung von Herzglykosiden in der Leber für deren toxikologisch bestimmte enterale Resorptionsquote"
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 246, 36-37 (1963)

- Lauterbach, F. "Metabolismus und enterale Resorption herzwirksamer Glykoside."
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 263, 26-39 (1969)
- Lauterbach, F.
Nitz, D.
Prescher, K. "Die Reduktion der Aldehydgruppe des Strophanthins und seiner Glykoside im tierischen Stoffwechsel!"
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 247, 71-86 (1964)
- Lauterbach, F.
Nitz, D.
Prescher, K. "Enterale Resorption, biliäre Ausscheidung und entero-hepatischer Kreislauf von Herzglykosiden bei der Ratte. "
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 247, 391-411 (1964)
- Lauterbach, F.
Repke, K. "Die fermentative Abspaltung von D-Digitoxose, D-Cymarose und L-Thevetose aus Herzglykosiden durch Leberschnitte."
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 239, 196-218 (1960)
- Lauterbach, F.
Repke, K. "Über die Verteilung herzwirkender spaltender Fermente im tierischen Organismus."
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 240, 45-71 (1960)
- Lauterbach, F.
Vogel, G. "Die Abhängigkeit der enteralen Wirkungsquote kardiotoner Steroide von der angebotenen Dosis."
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 259, 248-259 (1968)
- Lauterbach, F.
Vogel, G. "Zur Abhängigkeit der renalen Wirkung des Digitoxins von seiner Verteilung zwischen Plasmaalbumin und Nierengewebe."
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 249, 374-383 (1964)
- Lendle, L.
Pusch, P. "Über die Bindung der Digitaliskörper an die Eiweißstoffe des Blutes
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 177, 550-563 (1935)

- 77 Lindig, C.
Repke, K. "Über das Verhalten von Cardenoli-
den und Cardanoliden gegenüber
Alkali."
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper
Path Pharmac 241, 165-166 (1961)
- 78 Luchi, R.J.
Conn, H.L. "Digitalis action on the cells :
fable, fact, fancy."
Progr cardiovasc Dis 7, 336-359
(1965)
- 79 Luchi, R.J.
Gruber, J.W. "Unusually large digitalis re-
quirements: study of altered
digoxin metabolism. "
Amer J Med 45, 322-328 (1968)
- 80 Marcus, F.J.
Burkhalter, L.
Cuccia, C.
Pavlovich, J.
Kapadia, G.G. "Administration of tritiated
digoxin with and without a loa-
ding dose. A metabolic study."
Circulation 34, 865-874 (1966)
- 81 Marcus, F.I.
Kapadia, G.G. "The metabolism of tritiated
digoxin in cirrhotic patients."
Gastroenterology 47, 517-524 (1964)
- 82 Marcus, F.I.
Kapadia, G.G.
Goldsmith, C. "Alteration of the body distri-
bution of tritiated digoxin by
acute hyperkalemia in the dog."
J Pharmacol Exper Therap 165,
136-148 (1968)
- 83 Marcus, F. I.
Kapadia, G.J.
Kapadia, G.G. "The metabolism of digoxin in
normal subjects. "
J Pharmacol Exper Therap 145,
203-209 (1964)
- 84 Marcus, F.I.
Pavlovich, J.
Burkhalter, L.
Cuccia, C. "The metabolic fate of tritiated
digoxin in the dog: a comparison
of digitalis administration with
and without a "loading dose". "
J Pharmacol Exper Therap 156,
548-556 (1967)
- 85 Marcus, F.I.
Pavlovich, J.
Lullin, M.
Kapadia, G.G. "The effect of reserpine on the
metabolism of tritiated digoxin
in the dog and in man."
J Pharmacol Exper Therap 159, 314-
323 (1968)

- 6 Marcus, F.J.
Peterson, A.
Salel, A.
Scully, J.
Kapadia, G.G. "The metabolism of tritiated digoxin in renal insufficiency in dogs and man."
J Pharmacol Exper Therap 152, 372-382 (1966)
- 7 Megges, R.
Repke, K. "Improved intestinal absorption of polar glycosides by acylation!"
New aspects of Cardiac Glycosides, ed. W.Wilbrandt, Proc of the first Internat Pharmacol Meeting, Vol 3, 271-276, Pergamon Press, N.Y. (1963)
- 8 Meyer, Fr. "Über die perkutane Resorption herzwirksamer Glykoside."
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 237, 548-564 (1960)
- 9 Miyake, K. "Relationship between jaundice and action of digitoxin. II Why jaundice influences the action of digitoxin
Sapporo Medical Journal 2, 96-103 (1956)
- 0 Møller, K.O. "Pharmakologie" "Digitalisgruppe."
B.Schwabe, Basel, Stuttgart 497-518 (1961)
- 1 Neumann, W. "Pharmakologie der Digitaliskörper!"
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 208, 87-111 (1949)
- 2 Neumann, W. "Zur Frage der enzymatischen Spaltung von Digitalisglykosiden im Organismus."
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper Path Pharmac 208, 46-47 (1949)
- 3 Okita, J.T. "Metabolism of radioactive cardiac glycosides."
Pharmacologist 6, 45 (1964)
- 4 Okita, G.T. "Species difference in duration of action of cardiac glycosides."
Fed Proc 26, 1125-1130 (1967)

- 95 Okita, G.T. "Studies with radioactive digitalis
J Amer Geriatr Soc 5,163-174(1957)
- 96 Okita, G.T.
Kelsey, F.E.
Talso, P.J.
Smith, D.B.
Geiling, E.M.K. "Studies of the renal excretion of
radioactive digitoxin in human
subjects with cardiac failure."
Circulation 7, 161-168 (1953)
- 97 Okita, G.T.
Talso, P.J.
Curry, J.H.
Smith, D.B.
Geiling, E.M.K. "Metabolic fate of radioactive
digitoxin in human subjects. "
J Pharmacol Exper Therap 115,
371-378 (1955)
- 98 Pataki, G. "Dünnschichtchromatographie in der
Aminosäuren- und Peptid-Chemie."
Walter de Gruyter u. Co,Berlin
44 (1966)
- 99 Rabitzsch, G. "Spezifische Tritierung von Herz-
glykosiden unter Wilzbach-Beding-
ungen."
Naturwissenschaften 56,328 (1969)
- 100 Raudonat, H.W.
Engler, R. "Ausscheidungsprodukte des K-Stro-
phanthin-y und des Thevetins nach
oraler Verabfolgung bei Ratten."
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper
Path Pharmac 232,295-298 (1957)
- 101 Repke, K. "C-12-Hydroxylierung von Herz -
steroiden."
Naturwissenschaften 45,366(1958)
- 102 Repke, K. "Die chemische Bestimmung von Digi-
toxin in Geweben u.Ausscheidungen
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper
Path Pharmac 233,261-270 (1958)
- 103 Repke, K. "Über Digitoxin-Metaboliten bei
der Ratte."
Naturwissenschaften 45,394(1958)
- 104 Repke, K. "Die Bis- und Monodigitoxoside des
Digitoxigenins und Digoxigenins :
Metaboliten des Digitoxins."
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper
Path Pharmac 237,155-170 (1959)

- 105 Repke, K. "Glykosidspaltung im Tierkörper."
Naturwissenschaften 46, 173-174
(1959)
- 106 Repke, K. "Über Beziehungen zwischen Stoff-
wechsel und Kumulation von Herz-
glykosiden."
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper
Path Pharmac 236, 242-245 (1959)
- 107 Repke, K. "Über Spaltung und Hydroxylierung
von Digitoxin bei der Ratte."
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper
Path Pharmac 237, 34-48 (1959)
- 108 Repke, K. "Metabolism of cardiac glycosides."
New Aspects of Cardiac Glycosides,
ed. W. Wilbrandt, Proc of the first
Internat Pharmacol Meeting, Vol 3,
47-73, Pergamon Press, N.Y. (1963)
- 109 Repke, K. "Verteilung, Ausscheidung und Stoff-
wechsel von Digitoxin bei der Ratte
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper
Path Pharmac 233, 271-283 (1958)
- 110 Repke, K.
Lauterbach, F.
Kleszczewski, S.
Roth, L. "Über Digitalisentgiftung."
Verh Dtsch Ges Kreisl Forsch 25,
290-294 (1959)
- 111 Rothlin, E.
Bircher, R. "Pharmakodynamische Grundlagen der
Therapie mit herzwirksamen Glyko-
siden."
Ergebn inn Med Kinderheilk, Bd V,
457-552 (1954)
- 112 Ruiz-Torres, A. "Kinetik der Herzsteroido im Orga-
nismus des Menschen und der Ver-
suchstiere."
Klin Wschr 48, 257-270 (1970)
- 113 Schaumann, W. "Halbsynthetische Derivate kardio-
toner Glykoside."
Naunyn-Schmiedeberg's Arch exper
Path Pharmac 263, 40-46 (1969)

- 114 Shephard, E.E.
Thorp, R.H.
Wright, S.E. "The excretory products of digoxin in the rat."
J Pharmacol Exper Therap 112,
133-137 (1954)
- 115 Sjoerdsma, O.
Fischer, C.S. "The fixation of radioactive digitoxin by isolated hearts."
Circulation 4, 100-104 (1951)
- 116 Spratt, J.L.
Okita, G.T.
Geiling, E.M.K. "In vivo radio-tracer stability of a tritium "self radiation" labeled compound."
Int J appl Radiat 2, 167-168 (1957)
- 117 Stoll, A.
Renz, J. "Spaltung von Herzglykosiden mit Enzympräparaten aus tierischen Organen."
Helv chim Acta 10, II, 782-786 (1951)
- 118 St. George, S.
Bine, R.
Friedmann, M. "Role of the liver in excretion and destruction of digitoxin."
Circulation 6, 661-665 (1952)
- 119 St. George, S.
Friedmann, M.
Ishida, T. "The renal excretion of digoxin in the normal young subject."
J Clin Invest 37, 836-837 (1958)
- 120 Towbin, E.J.
Doherty, J.E.
Ferrel, C.B. "The renal excretion of tritiated digoxin."
Clin Res 12, 72 (1964)
- 121 Waldis bei Stahl: "Dünnschichtchromatographie." Springer-Verlag, Berlin, Hamburg, New York, 333-334 (1967)
- 122 Weiß, D.
Meyer-Elmen, E.
Ruiz-Torres, A. "Untersuchungen über die Ausscheidung von Digoxin durch den Harn beim Menschen."
Verh dtsch Ges Kreisl Forsch 34,
202-205 (1968)
- 123 Williams, R.T.
Millburn, P.
Smith, R.L. "The influence of enterohepatic circulation on toxicity of drugs."
Ann N Y Acad Sci 123, 110-124 (1965)
- 124 Wilzbach, E.E. "Tritium-labeling by exposure of organic compounds to tritium gas."
J Amer chem Soc 79, 1013 (1957)

- 125 Wong, K.C.
Spratt, J.L. "Assay of radioactive digoxin in liver tissue."
Biochem Pharmacol 12, 577-602
(1963), Pergamon Press, London
- 126 Wong, K.C.
Spratt, J.L. "Conversion of digoxin to digoxigenin by liver tissue in vitro!"
Biochem Pharmacol 13, 489-495
(1964), Pergamon Press, London
- 127 Wright, S.E. "The identification of digoxin metabolite B (digitoxin metabolite C) with digoxigenin-digitoxoside."
J Pharm Pharmacol 14, 613-614
(1962)
- 128 van Zwieten, P.A. "Über die Gewebsverteilung, den metabolismus und die Ausscheidung von Herzglykosiden."
Dtsch med Wschr 37, 1684-1687
(1967)

Herrn Professor Dr. med. Günter A. Neuhaus
danke ich für die Bereitstellung des Arbeits-
platzes sowie die Ermöglichung der Durchfüh-
rung der Arbeiten.

Herrn Professor Dr. med. A. Ruiz - Torres
bin ich für die Überlassung des Themas sowie
für seine beratende Unterstützung bei den
theoretischen und praktischen Arbeiten zu
besonderem Dank verpflichtet.

LEBENS LAUF

Erika Meyer-Elmen	1 Berlin - 31 Joachim-Friedrich-Str. 57
Geboren	Bad Ems, 7. I. 1944
Eltern	Dr. Paul Meyer-Elmen Jurist in Berlin, gefallen Erika Meyer-Elmen, geb. Stinsky
Schulen	1950 bis 1954 Grundschulen 1954 bis 1963 Humanistisches Gymnasium zu Berlin - Steglitz
Abitur	1963 Gymnasium Steglitz
Studium der Medizin	1963 bis 1969 Freie Universität Berlin Universität Hamburg Universität Jnnsbruck Freie Universität Berlin
Prüfungen	1964 Vorphysikum 1966 Physikum 1969 Staatsexamen
Medizinal- assistenten-Zeit	1969 bis 1970 4 Monate Chirurgie Bürgerspital Basel, Schweiz 4 Monate Chirurgie, Lörrach St.-Elisabethen-Krankenhaus 4 Monate Innere Medizin Krankenhaus Westend, Berlin

